



УДК 547.298.1 : 547.583.7 : 541.14

© 1991 г.

Н. А. Кравченко, Л. Г. Менчиков, И. А. Черкасов

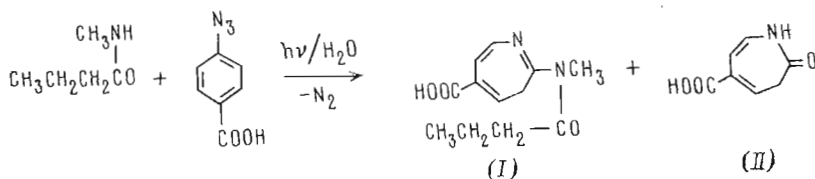
**СЕЛЕКТИВНОСТЬ ФОТОЛИТИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ
4-АЗИДОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ С N-МЕТИЛБУТИРАМИДОМ
В ВОДНОЙ СРЕДЕ; МОДЕЛЬ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ
БЕЛКОВ АРИЛАЗИДАМИ**

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского АН СССР, Москва

Фотохимическая модификация арилазидами широко используется в исследованиях белков, однако происходящие при этом химические превращения не изучены [1]. Известно лишь, что в белке могут неспецифически модифицироваться аминокислотные остатки любого типа [2], хотя прямое внедрения арилнитрена в связи C—H не происходит [3].

Как было показано ранее [4], при фотомодификации IgG человека в присутствии 4-азидобензойной кислоты (АВА) получается продукт, в котором, судя по данным аминокислотного анализа, содержание неизмененных аминокислот снижено на 20—30% по сравнению с нативным IgG, причем никаких других нингидринположительных продуктов, т. е. производных аминокислот со свободной α-аминогруппой, не наблюдается. Эти результаты вместе с упомянутыми выше литературными данными [2, 3] указывают на протекание модификации белка, по-видимому, по связи N—H пептидной цепи. Следует отметить, что данных по фотоиндуцированным реакциям арилазидов с амидами также не имеется. (Относительно недавний обзор по химии и фотохимии азидов см. [5].)

Нами впервые изучена направленность такого типа превращений на примере модельной реакции фотолиза водных растворов АВА с N-метилбутирамидом (МБА), молекула которого содержит элементарный фрагмент пептидной цепи >CHCO—NHCH< в электронейтральном и химически инертном окружении, т. е. имитирует внутренний (не концевой) участок пептидной цепи белка. При этом обнаружено, что реакция протекает аналогично фотолизу подобных арилазидов с диэтиламином [6] и затрагивает лишь связь N—H в молекуле МБА, приводя к образованию 2-(N-метилбутирамидо)-3H-азепин-5-карбоновой кислоты (I, выход 30%); одновременно образуется 3H-азепин-2-он-5-карбоновая кислота (II, выход 65%) как продукт взаимодействия промежуточного производного АВА с водой:



Таким образом, при фотолитическом взаимодействии АВА с МБА реакция протекает по связи N—H амидной группы; по-видимому, так же реагируют амидные группы в пептидной цепи белка (например, в IgG [4]), что и приводит к его неспецифической модификации.

Сокращения: АВА — 4-азидобензойная кислота, МБА — N-метилбутирамид.

Экспериментальная часть

АВА получали по методике [7], МВА — по методике [8]. Фотолиз проводили с помощью импульсной ксеноновой лампы ИФП 8000. На эту лампу коаксиально надевали стеклянную трубку с двумя отводами для загрузки и выгрузки исследуемого раствора; по торцам трубку герметически фиксировали кольцами из силиконового каучука. Ширину зазора между лампой и внутренней стенкой стеклянной трубки устанавливали 1 мм, общий объем такой кюветы составлял 14,6 мл [4].

Дегазированный от кислорода водный раствор смеси АВА и МВА (концентрация каждого по 4,5 мМ) загружали в кювету в токе азота и облучали серией световых импульсов до исчезновения поглощения АВА по УФ-спектру. Строение продуктов реакции установлено на основании ИК-, ПМР- и ^{13}C -ЯМР-спектров с учетом известных данных для реакций подобных арилазидов с диэтиламином и водой [6].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bayley H., Staros J. V. // Azides and Nitrenes. Reactivity and Utility. / Ed. Scriven E. F. V. Orlando, Fla.: Acad. Press, 1984. P. 433—490.
2. Matheson R. R., Jr., Van Wart H. E., Burgess A. W., Weinstein L. I., Scheraga H. A. // Biochemistry. 1977. V. 16. № 3. P. 396—403.
3. Bayley H., Knowles J. R. // Biochemistry. 1978. V. 17. № 12. P. 2414—2419.
4. Кравченко Н. А., Черкасова И. А., Чуракова Н. И., Свиридов В. В. // Препараты крови для лечения и профилактики заболеваний человека / Ред. Мигунов В. Н. М.: ЦНИИВС, 1989. С. 88—95.
5. Scriven E. F. V., Turnbull K. // Chem. Rev. 1988. V. 88. № 2. P. 297—368.
6. Nielsen P. E., Buchardt O. // Photochem. and Photobiol. 1982. V. 35. № 3. P. 317—323.
7. Galaray R. E., Craig L. C., Jamieson J. D., Printz M. P. // J. Biol. Chem. 1974. V. 249. № 11. P. 3510—3518.
8. D'Alorio G. F., Reid E. E. // J. Amer. Chem. Soc. 1937. V. 59. № 1. P. 109—111

Поступило в редакцию.
18.VII.1990

N. A. KRAVCHENKO, L. G. MENCHIKOV, I. A. CHERKASOV

SELECTIVITY OF PHOTOLYTIC REACTION OF 4-AZIDOBENZOIC ACID WITH N-METHYLBUTYRAMIDE IN AQUEOUS MEDIUM; A MODEL OF PHOTOCHEMICAL MODIFICATION OF PROTEINS WITH ARYLAZIDES

N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow

Photolytic reaction of 4-azidobenzoic acid (ABA) with N-methylbutyramide (MBA) in aqueous solution is investigated and shown to yield 2-(N-methylbutyramido)-3H-azepine-5-carboxylic acid along with 3H-azepin-2-one-5-carboxylic acid as a product of the reaction with water. The observed conversion of MBA is considered as a model of a non-specific photochemical modification of proteins (e. g., human IgG) with ABA, apparently via attack on N-H bonds of the peptide chain.